

PowerPlex® Y 系统

本说明书用于产品**DC6760** 和**DC6761**。

（注意：本中文操作手册仅供实验参考，在实际使用中请详细对照原英文技术手册TMD018。）

所有技术文件均可从公司网站**www.promega.com**得到。请访问公司网站以确定您所使用的技术手册是最新版本。



I. 介绍

STR (Short Tandem Repeat) 基因座由长度为3-7 个碱基对的短串联重复序列组成(1-4)。这些广泛分布于人类基因组中的重复序列是高度多态性标记的丰富来源，这些基因座可用聚合酶链式反应来检测 (5-8)。扩增区域重复序列重复次数的差异导致STR 基因座的等位基因分型的不同，在电泳分离后，用放射性同位素，银染或荧光检测可区别不同的基因型。Y 染色体上的STR 标记具有与常染色体上的STR 标记不同的特点，对于人类的身份鉴定非常有用(9-15)。Y-STR 标记位于Y 染色体的非重组区（NYR），当使用男性DNA 扩增时，产生单倍体峰图。由于女性DNA 得不到扩增，使得男/女性混合物的结果易于解释（16,17）。这些标记遵循严格的父性遗传方式，因此也适用于父权及家族研究。PowerPlex® Y 系统可以进行12 个基因座的同时扩增并用三色荧光进行检测。本系统包含的基因座有DYS19, DYS385a/b, DYS389I/II, DYS390, DYS391, DYS392,DYS393, DYS437, DYS438 及DYS439(18)。其中，DYS389I/II, DYS391 及DYS439的特异引物中的一条引物用荧光素标记(FL)，DYS385a/b, DYS390 及DYS393 的特异引物中的一条引物用羧基-四甲基罗丹明标记(TMR)；DYS19, DYS392, DYS437 及DYS438 的特异引物中的一条引物用6-羧基-4’，5’-二氯-荧光素(JOE)标记。在单管中对所有12 个基因座同时扩增后，通过单一进样或单个胶道进行电泳分析。PowerPlex® Y系统与ABI PRISM® 310遗传分析仪， ABI PRISM® 3100遗传

分析仪及ABI PRISM® 377 DNA测序仪相兼容。

PowerPlex® Y系统提供除AmpliTaq Gold® DNA Polymerase外的所有扩增纯化的基因组DNA STR区域所需的试剂。

本操作手册分别介绍了采用Perkin-Elmer 480,GeneAmp® PCR系统9600，9700和2400热循环仪扩增PowerPlex®Y系统的操作程序以及扩增产物分离、检测的操作流程。荧光检测仪器的操作说明可从仪器制造商处获取。

获取进一步的Promega 公司荧光STR 系统的信息及银染法检测STR 扩增片段的方法，请登陆网站：**www.Promega.com** 或与Promega 公司联系。

注意：Promega公司已对本手册中的操作进行试验。由于扩增及检测仪器的差异，循环数及进样时间(或上样体积)等需针对各个实验室的仪器进行调整优化。此外还需进行实验室有效性验证。

II. STR 分型

A. STR 分型的优势

与AMP-FLP (19) 和VNTR (20) 等分型方法相比，STR 基因分型方法所扩增的产物长度小得多(小于500bp)，因此更适于降解的DNA 模板分析。此外，STR分型适用于多种DNA 纯化方法所纯化的DNA，而这些纯化方法所获得的DNA 量往往不够作Southern 印迹分析。

Promega 的STR 产物具有不连续的可分离的长度，可以用每个基因座的几个或所有等位基因的相同长度的片段构建成等位基因阶梯(Allelic Ladder)，肉眼观察或利用分析软件比对同一基因座的等位基因阶梯和扩增样品，可以快速和准确地确定等位基因座。用PowerPlex® Y 系统获得的结果可以数据格式保存并与数据库做直接比对。人口分析不需要使用随机确认的人口数据固定库(21)。

B. PowerPlex® Y 系统所采用的基因座优势

PowerPlex®Y 系统所采用的基因座(表1 和表2)，已被法医学应用所广泛接受。这一组合包括全部“欧洲微小单倍体”（European minimal haplotype）的基因座（DYS19, DYS385a/b, DYS389I/II, DYS390, DYS391, DYS392 及DYS393）及科学工作组-DNA 分析方法（SWGDAM）所推荐的Y-STR 基因座（欧洲微小单倍体加上DYS438 及DYS439）再加上DYS437。有关欧洲微小单倍体的更详细信息可在以下网址找到：www.ystr.org (12).

PowerPlex® Y 系统包含有每一基因座最常见的大范围的等位基因阶梯。表2列出了这些等位基因的等位基因阶梯及9948 标准DNA 模板的单倍体。仔细选择的STR 基因座和引物可

以避免或减少伪带的产生，包括与Taq DNA聚合酶相关的重复滑移带及末端核苷酸添加。重复滑移带 (22,23)，有时称作“重复滑移带”，或“影子带”，是由于DNA 扩增中丢失了一次重复，或样品中DNA 本身的改变，或两种情况均有。观察到的伪带的出现主要取决于基因座本身和重复的DNA序列。

末端核苷酸添加 (24,25) 是由于Taq DNA 聚合酶以不依赖于模板的方式在扩增的DNA片段的3’末端加核苷酸，一般是腺苷酸，发生这一现象的频率取决于不同的引物序列。因此有时能观察到比预计少一个碱基的伪带(无末端核苷酸添加)。我们将引物序列作了修饰，并在扩增流程的最后一步，加入60oC 延伸30 分钟的步骤 (26)，以确保在使用推荐量模板的情况下，PCR 产物末端核苷酸的添加完全。微变化等位基因座(等位基因座相差的长度不是重复次数所致)使等位基因的解释和确认变得复杂。这和高度多态性，趋向微变化以及突变率的增加相关 (27,28)。

表1．PowerPlex® Y 系统基因座特异性的信息

STR 基因座	荧光标记	染色体位置	Genebank® 号	重复序列 [1] 5’ → 3’
DYS391	FL	Yq	G09613	TCTA(14)
DYS389I/II	FL	Yq	AF140635	[TCTG][TCTA] Complex(14)
DYS439	FL	Yq	AC002992	GATA(29)
DYS393	TMR	Yp	G09601	AGAT(14)
DYS390	TMR	Yq	AC011289	[TCTG][TCTA] Complex(14)
DYS385a/b	TMR	Yq	Z93950	GAAA(14)
DYS438	JOE	Yq	AC002531	TTTTC(29)
DYS437	JOE	Yq	AC002992	[TCTA][TCTG] Complex(29)
DYS19	JOE	Yp	X77751	TAGA Complex(14)
DYS392	JOE	Yq	G09867	TAT(14)

[1]ISFH（the International Society For Forensic Haemogenetics ） DNA委员会1997 年8 月的报告(22,23) 中指出：1）对于编码基因中的STR 基因座，使用编码链，并用重复框中的第一个可能的5’核苷酸来命名该重复序列框；2）对于与编码基因无关的STR 基因座，采用最先进入数据库的或最早发表的文章的命名方法。

TMR=carboxy-tetramethylrhodamine

FL=fluorecein

JOE=6-carboxy-4',5'-dichloro-2',7'-dimethoxyfluorescein

表2．**PowerPlex® Y** 系统等位基因阶梯。

STR 基因座	荧光标记	等位基因阶梯组分的大小范围 (碱基数)	等位基因阶梯组分的重复数[1]	9948 男性 DNA 对照的等位基因
DYS391	FL	90-118	6,8-13	10
DYS389I	FL	148-168	10-15	13
DYS439	FL	203-231	8-15[2]	12
DYS389II	FL	256-296	24-34	31
DYS393	TMR	104-136	8-16	13
DYS390	TMR	191-227	18-27	24
DYS385a/b	TMR	243-315	7-25	11,14
DYS438	JOE	101-121	8-12	11
DYS437	JOE	183-199	13-17	15
DYS19	JOE	232-268	10-19	14
DYS392	JOE	294-327	7-18	13

1 当使用内标时，例如内标600，计算出的等位基因阶梯组分的大小会与表中所列有所差异。这是因为等位基因阶梯和内标组分的序列差别会导致条带迁移的差异，标记物也影响等位基因座的迁移。

2 按照Ayub, *et al*.所描述的命名方法(29)。

C. 内标600

内标(ILS)包含22 个DNA 片段，长度分别为60、80、100、120、140、160、180、200、225、250、275、300、325、350、375、400、425、450、475、500、550 及600 碱基（图1）。这些片段用CXR 标记，可以在ABI PRISM® 310 遗传分析仪、ABI PRISM® 3100 遗传分析仪及ABI PRISM® 377 测序仪上同PowerPlex® Y的扩增产物一起检测。 ILS 600 用在每一个样本中以提高应用PowerPlex® Y 系统分析的精确度。ILS 600 的配制及使用方法参见VI.C，VII.E 及VIII.B。



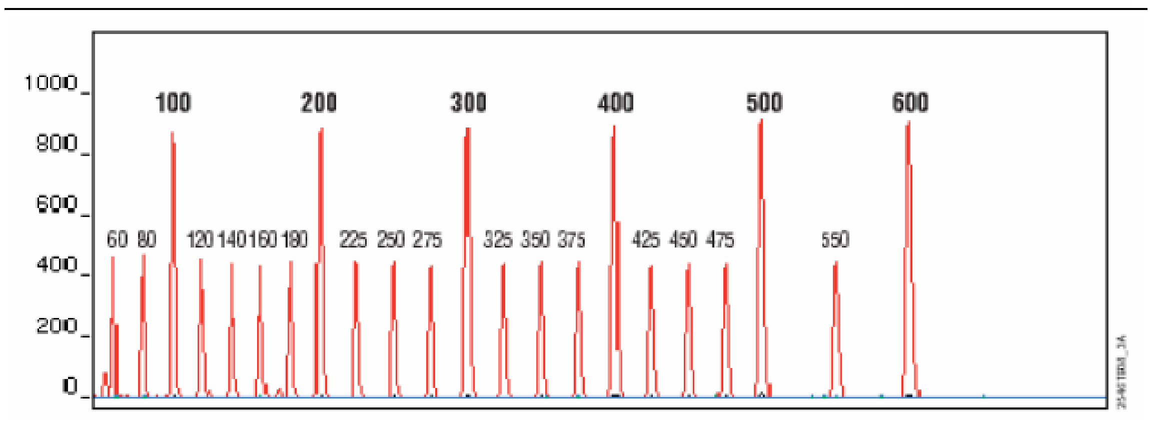


图1．内标600。显示内标600 片段的电泳图谱。

D. 警示及预防

法庭及父权鉴定案件中以PCR为基础的基因分型的应用需要有效性的研究及质量控制措施，此手册未包含（32，33）。纯化DNA 样品的质量、缓冲液的微小变动、离子强度、引物浓度，热循环仪的选择及热循环条件都可影响PCR 反应成功与否，所以我们建议用户严格遵照手册推荐的扩增、变性胶电泳及荧光检测实验程序。小量的非人类DNA 模板会对以PCR 为基础的STR 分析产生污染。当准备样品DNA、处理引物对、进行扩增及分析扩增产物时，要竭力避免交叉污染。扩增前使用的试剂(Gold ST*R 10X Buffer, PowerPlex® Y 10X Primer Pair Mix, 9948 MaleDNA 和9947A DNA)和扩增后使用的试剂(PowerPlex® Y Allelic Ladder Mix，ILS600 及 Blue Dextran Loading Solution)要分开保存。一定要设立没有模板DNA 的阴性对照反应来确保试剂的纯度。我们强烈推荐使用手套及防回吸加样头(如ART®tip，见章节Ⅻ．B)。

一些用于STR 产物分析的试剂有潜在的毒害作用，应按要求操作。表3 列出了相关试剂的潜在毒性。

注意：PowerPlex® Y系统需要检测及确定ILS 600中375 碱基峰以确定可观察到的最大等位基因的大小。

注意：Promega公司提供用于PowerPlex® Y系统的PowerTyperTMMacro（DG3470）和MatrixFL-JOE-TMRCXR（DG2860）或PowerPlex®MatrixStandards,3100（DG3380）。

表3. 毒性试剂



用于 ABI PRISM® 310 和 3100 遗传分析仪的试剂	毒性
甲酰胺	刺激性、致畸胎
用于 ABI PRISM® 377 测序仪的试剂	**毒性**
丙烯酰胺（Long Ranger® 胶液）	疑为致癌剂、毒性作用
甲酰胺(包含在 Blue Dextran 载样液中)	刺激性、致畸胎
尿素	刺激性
过硫酸胺	氧化剂，腐蚀性
TEMED	腐蚀性，易燃

III. 产品组成

产品	包装	目录号
PowerPlex® Y 系统	50 次反应	DC6761

非医学检测使用。

目录号DC6761 提供足够以25ul 反应体系进行50 次反应所需的试剂，包括：

扩增前试剂盒组成(蓝标记)

1x300µl Gold ST★R 10 x Buffer

1x125µl PowerPlex® Y 10 x Primer Pair Mix

25µl 9948 Male DNA(10ng/µl) 阳性对照

25µl 9947A DNA(10ng/µl) 女性阴性对照

扩增后试剂盒组成(棕标记)

1x 12.5µl PowerPlex® Y Allelic Ladder Mix

1x 150µl Internal Lane Standard (ILS) 600

lml Blue Dextran Loading Solution

1 技术手册

产品	包装	目录号
PowerPlex® Y 系统	200 次反应	DC6760

非医学检测使用。

目录号DC6761 提供足够以25ul 反应体系进行200 次反应所需的试剂，包括：

扩增前试剂盒组成(蓝标记)

2x300µl Gold ST★R 10 x Buffer

4x125µl PowerPlex® Y 10 x Primer Pair Mix

25μl 9948 Male DNA(10ng/μl) 阳性对照

25μl 9947A DNA(10ng/μl) 女性阴性对照

扩增后试剂盒组成(棕标记)

4x 12.5μl PowerPlex® Y Allelic Ladder Mix

2x 150μl Internal Lane Standard (ILS) 600

lml Blue Dextran Loading Solution

1 技术手册

储存条件:所有组分须-20°C 保存。PowerPlex® Y 10 x Primer Pair Mix、PowerPlex®Y Allelic Ladder Mix 及Internal Lane Standard (ILS) 600 对光敏感，须避光保存。我们强烈推荐扩增前试剂与扩增后试剂要分开保存并使用不同的吸头，试管架等。

IV. DNA 提取及定量方法

DNA IQTM系统(Cat# DC6700)是专门为法医及父权鉴定中DNA 样本分离及定量而设计的（34）。这项新技术使用磁性颗粒简便有效地制备来源于斑迹、血液、溶液等用于STR 分析的样本。 用DNA IQTM 系统提取DNA 可消除案件样本中经常遇到的PCR 抑制物及污染物。当样品中DNA 含量较高时，DNA IQTM 系统恒定量分离样品中的DNA，此系统可用于从常规样本，如口腔拭子、血液、FTA® 纸上的斑迹中定量分离DNA。此外，还可从组织、性犯罪案件检材及其它载体的斑迹中提取DNA。DNA IQTM 系统的提取效果已用PowerPlex®系统检验得到了证实。定货资料请参见XII.B。

DNA IQ™ 系统及AluQuant™ 人 DNA 定量系统已在Beckman Biomek® 2000实验室自动化工作平台（36）得到应用。有关实验过程自动化的信息可咨询Promega的当地分公司(联系信息可从www.promega.com 网站获得) 或e-mail ：techserv@promega.com

V. 用PowerPlex® Y 系统进行DNA扩增的步骤

用户准备的材料

热循环仪Thermal Cycler Model 480 或GeneAmp® System 9600, 9700 或2400(PE 公司)

微量离心机

0.5ml 或0.2ml (薄壁) 微量离心管 (PE 公司)

1.5ml 琥珀色微量离心管 (Fisher Cat# 05-402-26)

防回吸吸头(参见章节XII．B)

AmpliTaq Gold® DNA 聚合酶(PE 公司)

无核酸酶的水(Cat# P1193)
石蜡油(Cat.# DYll51，用于Thermal Cycler Model 480)

在25 微升反应体系中通常加入0.5-1.0ng 模板DNA。模板量过多会使小片段基因座相对峰高，大片段基因座相对峰低。GeneAmp® System 9600 用于PowerPlex® Y 系统扩增的方法经过了优化。此外，本技术手册还提供了用ThermalCycler Model 480，GeneAmp® System 9700 及2400 进行PCR 扩增的方法。如果使用男性与女性DNA 的混合物为模板则需要多于1 ng 的DNA（男性与女性DNA 混合在一起）。即使存在女性DNA，本系统也能够扩增出男性单倍体。加入的总DNA 量及男性与女性DNA 的比例应进行实验室验证，以得到可接受的结果。在组合分析之前，扩增并分析性别基因座可以得到男性与女性DNA比例的一些信息。Promega 公司提供用FL (Cat.# DC5171)或TMR(Cat. #DC6171)标记的单一性别位点扩增系统及相应的的等位基因阶梯。

注意：使用DNAIQTM 系统的标准方法得到的DNA 量大约为100ng。如果样品中主要含有女性DNA 及少量的男性DNA，我们建议修改操作方法以得到更多的总DNA。如需帮助， 请与Promega 公司的技术支持联系。
注意：扩增时需要特别小心。在X.A. 章节列出了扩增中常见问题。注意：如果使用GeneAmp®9600,9700 或2400 热循环仪，使用0.2ml 薄壁的MicroAmp®有错反应管，对于Perkin Elmer480 型热循环仪， 推荐使用0.5mlGeneAmp® 反应管。**注意**：每次使用前用旋涡震荡器将试剂充分混匀5-10 秒钟。不要离心10x引物对混合物，这样会使引物沉淀在管底。

A. 扩增体系的建立
注意：为防止交叉污染，我们**强烈**建议在实验过程中使用手套和防污染加样头。所有扩增前试剂和扩增后试剂须分别放于不同的实验室。在专门的实验室配制扩增反应液。

1. 融化Gold ST*R 10x Buffer 及PowerPlex® Y 10x Primer Pair Mix。

注意：
1. 使用前用旋涡震荡器将以上试剂充分混匀5-10 秒钟。不要离心10x 引物对混合物，这样会使引物沉淀在管底。
2. 如果在Gold ST★R 10xBuffer 中有沉淀产生，可在37oC 温热使之融化并混匀。
3. 确定扩增样品的数目，其中包含阴性及阳性对照，另外再增加1-2 个反应数以抵消取样误差。这也许会浪费少量试剂，但可以确保所有的样品均有足够的PCR 反应液。

4. 将0.5 或0.2ml 微量离心管置于架上并正确标记。

5. 表4 列出DNA 模板量为2.5µl 时25µl 反应体系的组成。模板量加大时应调整水量。

表4. PowerPlex® Y 系统扩增体系

PCR 混合物组分	一份样本所加体积
无核酸酶的水	16.95µl
Gold ST★R 10 x Buffer	2.5µl
PowerPlex® Y 10x 引物对混合液	2.5µl
Ampli TaqGold® DNA 聚合酶 [1]	0.55µl(2.75u)
反应混合液体积	22.5µl
模板 DNA	2.5µl
总反应体积	**25µl**

[1]假定AmpliTaq Gold® DNA 聚合酶浓度为5 u/µl。若酶的浓度发生变化，所用的酶体积必须做相应的调整。

2. 根据确定的扩增数目计算出PCR 反应所需各组分的总含量。

表5. PowerPlex® Y 系统扩增混合液

PCR 混合物组分	一份样本所加体积	x 反应个数=终体积(µl)
无核酸酶的水	ul	
Gold ST★R 10 x Buffer	2.5ul	
PowerPlex® Y 10x 引物对混合液	2.5 ul	
AmpliTaq Gold® DNA 聚合酶 [1]	0.55µl(2.75u)	
反应混合液体积	ul	
每管		
模板 DNA	ul	
总反应体积	**25µl**	

[1] 假定AmpliTaq Gold® DNA聚合酶浓度为5 u/µl。若酶的浓度发生变化，所用的酶体积必须做相应的调整。

[2] 反应混合液体积加上模板DNA 体积应等于25µl。

3. 按表解列的顺序，将PCR 各反应组分的终体积加至1.5ml 无菌琥珀色小管中充分混合。

4. 将PCR 反应混合物分装至PCR 扩增管。

5. 将0.5-1.0ng 模板DNA 加至相应的含有PCR 反应混合物的PCR 扩增管中。



6. 将9948 男性DNA 稀释至0.5ng / µl，加0.5ng 稀释的DNA 至含有PCR 反应混合物的PCR 扩增管中。

7. 作为阴性对照，用无菌水代替DNA 加至含有PCR 反应混合物的PCR扩增管中。

8. 可选做：9947A （女性）DNA 可以作为次级阴性对照以验证男性特异性。在含有扩增反应混合物的PCR 扩增管中加入适量DNA（需要稀释）。

9. 如果使用GeneAmp® System 9600，9700 或2400 热循环仪及MrcioAmp®反应管，无需在反应管中加入石蜡油。如果使用Model 480 热循环仪及GeneAmp® 反应管，则需向反应管中加1 滴石蜡油。

注意：让石蜡油沿着管闭流下形成覆盖层以减少样本的缺失及交叉污染。

注意：扩增时模板量超过2ng会导致各基因座间峰高不平衡。小片段扩增产量大于大片段。减少扩增程序中2-4 个循环数(10/20或10/18) 可改善基因座间的平衡性。

注意：将DNA储存于水或TE-4(10mMTris [PH 8.0],0.1mMEDTA)。如果将DNA 储存于TE 缓冲液中，而TE 缓冲液的PH 不是8.0 或含有较高浓度的EDTA或其它PCR 抑制剂，则加入的DNA 的体积不应超过反应终体积的20%。**注意**：如将扩增后的样品存放于4 oC 或以上，将导致样品降解。

注意：由于扩增及检测仪器的差异，循环数及进样时间(上样体积)等需针对各个实验室的仪器进行调整优化。

B. 扩增热循环

1. 将PCR 扩增管置于热循环仪上。
2. 选择下面推荐的各型号扩增仪的相应程序进行扩增热循环。
3. 扩增后的样品避光保存在-20°C。



用于 **PE GeneAmp® PCR System 9700** 热循环仪的扩增方法	用于 **PE GeneAmp® PCR System 2400** 热循环仪的扩增方法
95 °C 11 分钟； 96 °C 1 分钟，然后： ramp 100%达到 94 °C 并保持 30 秒； ramp 29%达到 60 °C 并保持 30 秒； ramp 23%达到 70 °C 并保持 45 秒； **10** 次循环； ramp 100%达到 90 °C 并保持 30 秒； ramp 29%达到 58 °C 并保持 30 秒； ramp 23%达到 70 °C 并保持 45 秒； **18-22** 次循环； 60 °C，30 分钟； 4 °C 保存。	95 °C 11 分钟； 96 °C 1 分钟，然后： ramp 100%达到 94 °C 并保持 30 秒； ramp 100%达到 60 °C 并保持 30 秒； ramp 23%达到 70 °C 并保持 45 秒； **10** 次循环； ramp 100%达到 90 °C 并保持 30 秒； ramp 100%达到 58 °C 并保持 30 秒； ramp 23%达到 70 °C 并保持 45 秒； **18-22** 次循环； 60 °C，30 分钟； 4 °C 保存。

用于 **PE GeneAmp® PCR System 9600** 热循环仪的扩增方法	用于 **PE480** 型热循环仪的扩增方法
95 °C 11 分钟； 96 °C 1 分钟；然后： 94 °C 30 秒； ram 68 秒到达 60 °C 并保持 30 秒； ram 50 秒到达 70 °C 并保持 45 秒； **10** 次循环； 90 °C 30 秒； ram 60 秒到达 58 °C 并保持 30 秒； ram 50 秒到达 70 °C 并保持 45 秒；； **18-22** 次循环； 60 °C，30 分钟； 4 °C 保存。	95 °C 11 分钟； 96 °C 2 分钟；然后： 94 °C 1 分钟； 60 °C 1 分钟； 70 °C 1.5 分钟； **10** 次循环； 90 °C 1 分钟； 58 °C 1 分钟； 70 °C 1.5 分钟； **18-22** 次循环； 60 °C，30 分钟； 4 °C 保存。



VI. 用ABI PRISM® 310遗传分析仪检测扩增片段

由用户准备的材料(溶液组分列于章节XII.A．)

加热块，水浴箱或热循环仪

310毛细管，47cmx50µm (PE Biosystems)

Performance Optimized Polymer4 (POP-4；PE Biosystems)

玻璃注射器(1ml)

含EDTA的10x基因分析缓冲液(PE Biosystems)

样品管及胶盖(PE Biosystems)

防回吸加样头(章节Ⅻ.B．)

电导率小于100µS / cm 的去离子甲酰胺(Amresco 超纯级，Cat.#0606)

Matrix FL-JOE-TMR-CXR(Cat.#DG2860)

碎冰

注意：甲酰胺的质量非常重要，用电导率<100µS / cm 的去离子甲酰胺。可以将甲酰胺分装并-20C 冻存。多次冻融或在4^{o}C 长期保存会使甲酰胺降解。电导率>100µS / cm 的甲酰胺含有离子，在进样时和DNA 竞争。这会导致低的峰值，降低灵敏度。延长进样时间不能提高信号强度。

A. Matrix 标准化

在Matrix 标准化时需要使用Promega 公司的PowerPlex® Matrix Standards, 310(Cat.#DG4640)。PowerPlex® Matrix Standards, 3100(Cat.#DG4650)不能用于ABI PRISM® 310 遗传分析仪的Matrix 标准化。进一步的Matrix 标准化的信息可以查阅Promega 的PowerPlex® Matrix Standards, 310 Technical Bulletin(TBD021)或登录Promega 公司网站 www.promega.com 。

在310 分析仪上产生正确的Matrix 文件非常关键并且每一台 ABI PRISM®310 遗传分析仪要有自己的Matrix。

A. 仪器准备

1. 参照ABI PRISM® 310 遗传分析仪的用户手册来清洗泵块，安装毛细管，校正自动进样器，并向Syringe 中添加Polymer。
2. 打开ABI PRISM® 310 遗传分析仪收集软件。
3. 参照ABI PRISM® 310 遗传分析仪用户手册，准备GeneScan®样品表，在“Sample Info”

栏中输入正确的样品信息。

4. 创建新的GeneScan®进样表。在下拉菜单中选择合适的样品表。

5. 在下拉菜单中选择“GS STR POP4 (1 ml) A”模式，选择合适的进样时间（参考页边注意事项）。电泳时间24 分钟，其余参数的设置如下：

Inj．Secs： 2-5

Inj．kV： 15.0

Run kV： 15.0

Run °C： 60

Run time： 24

6．选择合适的Matrix 文件 (参见VI.A)。

7．若要对收集的数据进行自动分析，选择自动分析框，合适的分析参数及大小标准对数据自动分析，可以参照ABI PRISM® 310 遗传分析仪用户手册以获得进一步信息。

注意：Promega公司试验证明模板量为0.5-1ng 纯DNA时10/20 或10/22 循环可得到满意扩增效果。模板量加大时可减少扩增循环数， 例如10/18。此外还需进行实验室有效性验证。

注意：PowerPlex® Y系统需要检测及确定ILS 600中375 碱基峰以确定可观察到的最大等位基因的大小。

注意：由于毛细管温度或其他方面的变化，电泳时片段的迁移会产生微小的变化。在分析多样本时，在电泳的不同时间加入等位基因阶梯有助于提高基因分型的准确性。

C．样品的准备

PowerPlex® Y 系统已含有作为内标的ILS 600。在进行四色荧光检测及分析扩增产物时，每分析96 个样品，只需同时电泳3-4 次PowerPlex® Y Allelic Ladder Mix。

1． 按下面方法准备由内标600（ILS 600）及去离子甲酰胺组成的上样混合物：

[(1.0µl ILS 600)X(进样数)]+[(24.0µl 去离子甲酰胺)X(进样数)]

2． 旋涡震荡10-15 秒。

3． 将上述25.0µl 上样混合物和1.0µl 的扩增产物混合，用加样器混匀。

4． 将25.0µl 上样混合物和1.0µl PowerPlex® Y Allelic Ladder 混合。

5． 将样本及PowerPlex® Y Allelic Ladder 在95℃变性3 分钟，立即放在冰上冷却3分钟。样品变性之后尽快电泳。

6． 将小管置于合适的自动进样托盘上(48 或96 管)

7． 将自动进样托盘置于仪器内，关上仪器门。



注意：由于仪器检测灵敏度的差异，故进样时间或样本进样量可加以调整，如果峰高超过2000rfu，可将样本在混合前用Gold ST★R 1x 缓冲液稀释，否则会使各基因座等位基因峰高不均衡。为了得到更好的结果，在扩增反应时减少模板DNA 的量或将热循环程序的循环数减少2-4 个循环(如使用10 / 18 或10 / 20 个循环)。ILS 600 的用量也可以调整。

D. 毛细管电泳及检测

1. 将进样托盘置于仪器内，关上仪器门后选择"Run"开始毛细管电泳。
2. 通过观察状态窗及原始数据来监测电泳状况。
3. 每个样本从进样到电泳完成需大约35 分钟。
4. 用GeneScan® 分析软件分析数据，打开GeneScan®文件。
5. 浏览1 个或多个样本电泳的原始数据。点亮样本文件名，在"sample"菜单下选择"raw data"。移动追踪线，使光标停在引物峰右侧(第一个红的内标峰之前)，以此时窗口左下角显示的数值作为分析参数中的起始点。
6. 分析参数见下表：

Analysis Range	Start: Defined in Step 5 Stop: 10,000
Data Processing	Baseline: Checked Multicomponent: Checked Smooth Option: Light*
Peak Detection	Peak Amplitude Thresholds** B: Y: G: R: Min. Peak Half Width:3pt
Size Call Range	最小：60 最大：600
Size Calling Method	Local Southern Method
Split Peak Correction	None

*平滑度选择由各实验室自行决定。

**峰域值即软件可识别的最小峰高值，由各实验室自行决定，一般为50-200RFU。

7. 分析参数保存在Genescan® analysis folder 的Analysis Parameters 文件夹中。
8. 将所保存的分析参数文件提供给样本。



9. 指定新的内标。选择样本文件，点亮"Size Standard"旁边的箭头，选择"DefineNew”。依据图1 所示标记各内标峰。将新定义的内标标准保存在Genescan® analysis folder 中的“Size Standard”文件夹中。

注意：如果在CXR(红色)信号中出现由于TMR(黄色)信号而带起的峰，可提高分析参数中CXR的信号识别域值(例如100-200 RFU)。因为CXR 信号应该高于300 RFU，所以不会影响数据分析。

10. 将内标标准文件提供给样本，然后分析样本文件。

注意：1. 扩增样本的理想峰高应小于2000 RFU。当峰高大于2000 RFU 时，可能会由于仪器饱和度的限制而产生杂峰（如进样量过大）。如果样品的峰高不在仪器的线性检测范围内，杂峰与实际等位基因峰高的比率会升高，给基因分型带来困难，各个峰高的均衡性也会降低。
2. 同一个样本在不同仪器上所测定的相关荧光单位可能不同。另外，不同的仪器对不同颜色荧光的测量效率也会有差异，从而影响各峰值的平衡。

11. 参见章节IX 进行进一步的数据分析。

VII. 用ABI PRISM® 377 DNA 测序仪检测扩增片段

用户准备的材料(溶液组分列于章节Ⅻ.A.)

加热块、水浴箱、热循环仪

碎冰

Long Ranger®凝胶液(BioWhittaker Molecular Applications CAT. #50611) 或 Long Ranger Singel® pack for ABI sequencers 377-36cm (BioWhittaker Molecular Applications Cat. #50691)

10％过硫酸铵(Cat. #V3131)

TEMED (Cat. #V3161)

尿素(Cat. #V3171)

TBE 10xbuffer

Nalgene® tissue culture filter (0.2微米)

防回吸加样头（XII. B）

凝胶上样头

36cm 前后玻璃板

36cm 凝胶垫片(0.2mm 厚)



36-孔鲨鱼齿梳或34-孔方齿梳(0.2mm 厚)

夹子(大的办公室夹子)

Liqui-Nox® 或其它去污剂

Matrix FL-JOE-TMR-CXR(Cat.#DG2860)

A. 制备聚丙烯酰胺凝胶

以下介绍在ABI PRISM® 377 DNA 测序仪上进行36cm 变性聚丙烯酰胺凝胶电泳的准备工作。我们推荐使用低荧光的玻璃板，其可从仪器供应商处获得。

1. 用热水和1％ Liqui-Nox® 溶液清洗玻璃板。然后用去离子水彻底清洗，让玻璃板在无尘埃环境中空气干燥。
2. 将0.2mm 厚的凝胶垫片放在前后玻璃板中间。用夹子(每边4 个)将前后玻璃板固定在一起。将安装好的玻璃板平放在托架或相似的支撑物上。
3. 将表10 所列的组分混合(总共50ml)，制备5％ Long Ranger®聚丙烯酰胺凝胶。不断搅动溶液直到尿素完全溶解。

表6. 制备5％ Long Ranger® 聚丙烯酰胺凝胶组分 5%凝胶 终浓度

组分	5%凝胶	终浓度
尿素	18g	6M
去离子水	26ml	
10xTBE	5ml	1x
50% Long Ranger®凝胶溶液	5ml	5%
总体积	50ml	

注意：可使用Long Ranger Singel® Packs 。

4. 将丙烯酰胺溶液用0.2 微米滤器(如Nalgene® tissue culture filter)过滤，并去气泡5 分钟。
5. 向50ml 丙烯酰胺溶液中加入35µl TEMED和250µl 新配制的10％过硫酸铵，温和混匀。
6. 用一次性30cc 针筒将胶液从玻板底部注入水平的玻板中，为保持胶液持续流动，可轻轻拍打玻板帮助胶液运动避免产生气泡。
7. 在玻璃板间插入36-孔鲨鱼齿梳或34-孔方齿梳。也可使用64 孔或96 孔的鲨鱼齿梳。
8. 用3 个均匀分布的夹子固定梳子。
9. 剩余的丙烯酰胺溶液作为聚合反应的对照物。
10. 聚合反应延续2 小时以上，检查聚合反应对照物以确保聚合反应完全。



B. Matrix 标准化

在Matrix 标准化时需要Matrix FL-JOE-TMR-CXR 试剂盒（Cat#.DG2860）。PowerPlex® Matrix Standards, 3100(Cat.#DG3380)不能用于ABI PRISM® 377DNA 测序仪的Matrix 标准化。有关Matrix 标准化的操作步骤及进一步的Matrix标准化资料可以查阅Promega 的Matrix FL-JOE-TMR-CXR 技术手册TBD015(与目录号Cat.#DG2860 的试剂盒一起提供)或登陆Promega 公司的网页www.promega.com 查询。

在377 DNA 测序仪上产生正确的Matrix 文件非常关键，并且每一台377 DNA测序仪要有各自的Matrix。

C. 仪器准备

1. 打开ABI PRISM® 377 DNA 测序仪收集软件
2. 按照GeneScan® 分析软件用户手册，准备样品表。在“sample info”栏输入适当的样品信息。在含有PowerPlex® Y 等位基因阶梯的道的信息栏中，在兰色、黄色、绿色的“Sample info”栏，标记为“ladder”。
3. 使用以下的设置建立新的GeneScan® 电泳模式：

Plate Check Module (平板检测模式)	Plate CheckA
Prerun Module (预电泳模式)	PR GS 36A-2400
Run Module： (电泳模式)	GS 36A-2400
Collect Time ：(收集时间)	2.5 小时
Well-to-Read distance: (可读距离)	36cm

5. 用下拉菜单选择合适的样品表和梳子。
6. 选择合适的胶Matrix 文件(章节VII.B)。

注意：使用去离子水浸湿的纸巾和塑料包裹凝胶以防止水分蒸发，凝胶可以放置过夜（尿素结晶会破坏凝胶）。

D. 凝胶预电泳

1. 从聚合的丙烯酰胺凝胶上取下夹子。如果需要，用沾有去离子水的纸巾擦净玻板上溢出的丙烯酰胺。
2. 除去梳子上多余的聚丙烯酰胺并移去梳子。若用鲨鱼齿梳，小心地将梳齿插入胶中约1-2 毫米。
3. 将胶／玻板装入377 卡槽并固定。

4. 依据ABI PRISM® 377 DNA 测序仪用户手册推荐的方法拧牢仪器的卡槽并检查玻板，如果基线不水平，须将玻板从卡槽中取出并重新擦拭玻板表面，重新检查玻板。
5. 将TBE 1x 缓冲液加入到仪器的上下缓冲液槽中。
6. 用充满缓冲液的30cc 注射器吹去梳齿内的气泡及未凝固的丙烯酰胺，盖好上缓冲液槽的盖子，用弯头注射器移去胶底部的气泡。
7. 装上加热板，接好水管，连接所有电极，关上仪器门，点击"PreRun"键开始预电泳15-20 分钟或预电泳至胶的温度达到40oC。打开状态窗口以检测凝胶温度。
8. 预电泳期间准备样品和等位基因阶梯。

E. 准备样品及上样

PowerPlex® Y 系统已含有作为内标的ILS 600。在进行四色荧光检测和分析扩增产物时，每次凝胶电泳，只需加2-3 道PowerPlex® Y Allelic Ladder Mix 进行电泳。

1. 混合ILS 600 及Blue Dextran Loading Solution 配制上样混合物。
[(0.5µl ILS 600) x (道数)]+[(1.5µl Blue Dextran Loading Solution) x (道数)]
2. 旋涡震荡10-15 秒。
3. 将1.0µl 扩增产物加入到2.0µl 上述混合物中。

注意：由于仪器检测极限不同，故进样时间或样本进样量可加以调整，如果峰高超过2000RFU，可将样本在混合前用Gold ST★R 1x 缓冲液稀释，否则可能会使各基因座等位基因峰高不均衡。为了得到更好的结果，在扩增反应时使用少量的模板DNA 或将热循环程序的循环数减少2-4 个循环。 ILS 600 的用量可以调整。

4. 将1.0µl PowerPlex® Y 等位基因阶梯加入到2.0µl 步骤1 配制的上样混合物中。在上样前旋涡震荡混匀。
5. 离心使管中的全部成分聚集于管的底部。
6. 将样本及等位基因阶梯95 oc 变性2 分钟，立即放在碎冰上冷却，变性后尽快上样。
7. 预电泳15-20 分钟后，按"pause"键暂停仪器，这时水会继续循环保持上样过程中凝胶的温度。
8. 用充满缓冲液的30cc 注射器吹去齿梳内尿素。
9. 将1.5µl 变性样本上样。
10. 给上缓冲液槽加盖并关上仪器门。

F. 凝胶电泳及检测



1. 上样结束后，按"Cancel"键停止预电泳。确证电泳时间设置为2.5 小时后，按“Run”键开始电泳。
2. 通过观察胶图及状态窗控制电泳。
3. 电泳2.5 小时。
4. 追踪及提取胶道。
5. 浏览胶图。将指针放在胶图的去除引物区的位置。使用window 顶端显示的值作为分析参数中的“Start”值。
6. 打开GeneScan®文件夹。
7. 推荐的分析参数为：

Analysis Range	Start: Defined in Step 5(第 5 步中的定义值) Stop: 10,000
Data Processing	Baseline: Checked Multicomponent: Checked Smooth Option: Light*
Peak Detection	Peak Amplitude Thresholds** B: Y: G: R: Min. Peak Half Width: 3pt
Size Call Range	最小：60 最大：600
Size Calling Method	Local Southern Method
Split Peak Correction	None

* 平滑度选择由各实验室自行决定。

** 峰域值即软件可识别的最小峰高值，由各实验室自行决定，一般为50-200RFU。

8. 分析参数保存在" GeneScan® Analysis Folder”的“Analysis Parameters”文件夹中。
9. 将保存的分析参数文件提供给样本。
10. 指定新的内标。选择样本文件，点亮“Size Standard”旁边的箭头，选择“Define New”。依据图1 所示标记各内标峰。将新定义的内标标准保存在GeneScan® analysis folder 中的“Size Standard”文件夹中。
11. 将保存的分子量标准提供给样品文件，然后分析样品文件。
12. 参见章节IX 进行数据分析。



注意：第9 步可根据仪器的不同进行优化。推荐使用1-2µl的上样体积。

注意：PowerPlex®Y系统需要检测并定义ILS 600中375 碱基峰，以准确判断可观察到的最大的等位基因。

注意：甲酰胺为刺激性的致畸胎剂，避免吸入及接触。操作时需仔细阅读注意事项并佩戴防护眼镜和手套。

注意：1. 样本峰高理想值为小于2000 RFU，当峰高大于2000 RFU 时，可能会由于仪器饱和度的限制而产生杂峰（如样品过载）。如果样品的峰高不在仪器的线性检测范围内，杂峰与实际等位基因峰高的比率会升高，给基因分型带来困难，各个峰高的均衡性也会降低。同一个样本在不同仪器上所测定的相对荧光单位可能不同。

2. 不同的仪器对不同颜色的荧光测量效率也会有差异，从而影响各颜色峰值的平衡。

G. 玻璃板的重复使用

分开玻板，弃去胶。用热水及1％ Liqui-Nox®溶液彻底清洁玻璃板。用去离子水
清洗玻璃板，将其在无尘环境中阴干。在此过程中不要划伤玻板。

VIII. 用ABI PRISM® 3100 遗传分析仪检测扩增片段

用户准备的材料(溶液组分列于章节Ⅻ.A.)

加热块，水浴箱或热循环仪

碎冰

防回吸加样头

3100 毛细管阵列，36cm

3100 专用Performance Optimized Polymer 4 (POP-4)

含EDTA 的10xGenetic Analyzer Buffer

3100 专用样品管及盖

电导率小于100µS／cm的去离子甲酰胺(Amresco 超纯级，目录号0606)

PowerPlex® Matrix Standards，3100(Cat.#DG3380)

注意：甲酰胺的质量非常重要，用电导率<100µS／cm 的去离子甲酰胺。可以将甲酰胺分装并-20oC 冻存。多次冻融或在4oC 长期保存会使甲酰胺降解。电导率>100µS／cm 的甲酰胺含有离子，在进样时和DNA 竞争。这会导致低的峰值，降低灵敏度。延长进样时间不能提高信号强度。



A. 光谱校准

需要用PowerPlex® Matrix Standards，3100(Cat.#DG3380) 对ABI PRISM 3100遗传分析仪进行光谱校正。Matrix FL-JOE-TMR-CXR(Cat.#DG2860)不能用于ABIPRISM® 3100遗传分析仪的Matrix 标准化。具体校正的方法请参阅PowerPlex® MatrixStandards，3100 技术指导手册#TBD016 可从Promega 公司或Promega 公司网站www.promega.com. 获得。

正确的光谱校正对使用ABI PRISM® 3100 遗传分析仪进行多色荧光系统分析至关重要。每台ABI PRISM® 3100 遗传分析仪都要进行光谱校正。

B. 样品准备

PowerPlex® Y 系统已包含有内标ILS 600(Cat.#DG2611)，在进行四色荧光检测和分析扩增产物时作为内参照标准。

1. 按下面方法准备由内标600 (ILS 600)及去离子甲酰胺组成的上样混合物：
[(1.0µl ILS 600)X(进样数)]+[(9.0µl 去离子甲酰胺)X(进样数)]
2. 旋涡震荡10-15 秒。
3. 将10.0µl 上述混合物加至加样板每孔。
4. 加1.0µl 扩增产物(或1.0µl 等位基因梯度混合物)，盖好盖。

注意：由于仪器检测灵敏度的差异，故进样时间或样本进样量可加以调整，如果峰高超过2000RFU，可将样本在混合前用Gold ST★R 1X 缓冲液稀释，否则会使各基因座等位基因峰高不平衡。为了得到更好的结果，可在扩增反应时减少模板DNA 的量或将热循环程序的循环数减少2-4 个循环。

5. 将样本95oC变性3 分钟，立即放在冰上冷却3 分钟。之后尽快在ABI PRISM®3100 遗传分析仪上电泳。

C. 仪器准备

1. 参照ABI PRISM® 3100 遗传分析仪的用户手册来清洗泵块，安装毛细管阵列，校正自动进样器，向注射器中添加胶。
2. 打开ABI PRISM® 3100 “Data Collection”软件。
3. 打开”New Plate Record”，命名样品板并选择“GeneScan”。选择样品板大小(96 孔或384 孔)。点击“Finish”。
4. 完成进样表。在“Sample Name”及“Color infor”栏中输入正确的信息。对等位基因梯度样品在兰色、黄色、绿色的“Color info”栏中标记上“ladder”。一定要输入这些信息，以确保用PowerTyperTM Y Macro 成功地分析数据。
5. 在“BioLIMS Project”栏的下拉菜单中选择“3100_ Project1”。

6. 在“Dye Set”栏中选择“Z”。

7. 在“Run Module 1”栏， 从下拉菜单中选择“GeneScan36POP4Default Module”。

8. 如果收集数据时不进行自动分析，则在“Analysis Module 1”栏中选择“No Selection”。数据收集完毕后用GeneScan®分析软件进行数据分析时，再提供分析参数。

如果在收集数据同时进行分析，则在“Analysis Module 1”栏中选择适当的分析方式。详细指导参见*ABI PRISM® 3100 遗传分析仪用户手册*。

注意：根据内标峰值可适当调整内标的进样量。

注意：将准备好的样本离心可消除会影响电泳分析的气泡。

注意：若希望减少信号强度可在运行模式下减少进样时间。在“Tools”下通过“moduleEditor”来改变电泳状态。同样，运行时间也可减少。

GeneScan®样品板记录结果应如下所示：

Well	Sample Name	Dyes	Color Info	Color Comment	BioLIMS Project	Dye Set	Run Module 1	Analysis Module 1
A1	Sample_1	B	Sample_1		3100_Project1	Z	GeneScan36_POP4DefaultModule	
		G	Sample_1					
		Y	Sample_1					
		R						
		O						
B1	Allelic_Ladder	B	Ladder		3100_Project1	Z	GeneScan36_POP4DefaultModule	
		G	Ladder					
		Y	Ladder					
		R						
		O						

9. 点击“OK”。此新建样品板记录将出现在收集软件的样品板开始页的样品板记录表中。

10. 将样品盘放入仪器，关上仪器门。

11. 在样品板记录表中，单击刚刚建立的样品板记录名称。

12. 一旦样品板记录被选中，点击与样品板中所加样本相对应的样品板图表。

13. 当样品板记录与样品板连接后，样品板图表将从黄色变成绿色，样品板记录从样品板记录列表转变成连接的样品板记录列表，并且“Run Instrument”按钮变成可点击状态。

14. 在工具栏中点击“Run Instrument”按钮，样本开始电泳。

15. 通过观察运行状态，阵列以及收集软件中的毛细管视窗来控制电泳。每次电泳时间约45分钟。

D. 样本的检测

1. 用GeneScan®分析软件分析数据。

2. 浏览样本电泳的原始数据。点亮样本文件名，在“sample”菜单下选择“raw data”。移动追踪线，使光标停在引物峰右侧(第一个红色的内标峰之前)，以此时窗口左下角X 轴上显示的数值



作为分析参数中的起始点。

3. 分析参数见下表：

Analysis Range	Start: Defined in Step 2(第 2 步中的定义值) Stop: 10,000
Data Processing	Baseline: Checked Multicomponent: Checked Smooth Option: Light*
Peak Detection	Peak Amplitude Thresholds** B: Y: G: R: Min. Peak Half Width: 2pt
Size Call Range	最小：60 最大：600
Size Calling Method	Local Southern Method
Split Peak Correction	None

*平滑度选择由各实验室自行决定。

**峰域值即软件可识别的最小峰高值，由各实验室自行决定，一般为50-200RFU。

4. 分析参数保存在"Params"文件夹中。

5. 将所保存的分析参数文件提供给样本。

6. 指定新的内标。选择样本文件，点亮"Size Standard"旁边的箭头，选择"Define New"。依据图1 所示标记各内标峰。将新定义的内标标准保存在"Size Standards"文件夹中。

注意：如果在CXR(红色)信号中出现由于TMR(黄色)信号而带起的峰，可提高分析参数中CXR的信号识别域值(例如100-200RFU)。因为CXR 信号应该高于300RFU，所以不会影响数据分析。

7. 将内标标准文件提供给样本，之后分析样本文件。

8. 参见章节 Ⅸ 进行数据分析。

注意：1. 扩增样本的理想峰高应小于2000 RFU。

2. 当峰高大于2000 RFU 时，可能会由于仪器饱和度的限制而产生杂峰(例如进样量过大)。有时会观察到在某一颜色中出现由另一颜色的信号而带起或减低的峰。饱和信号也可能会以2个小峰的形式出现。

3. 如果样品的峰高不在仪器的线性检测范围内，杂峰与实际等位基因峰高的比率会升高，给基因分型带来困难，各个峰高的平衡性也会降低。

4. 同一个样本在不同仪器上所测定的相对荧光单位可能不同。另外，不同的仪器对不同颜色荧光的测量效率也会有差异，从而影响各颜色峰值的平衡。

IX. 数据分析

A. PowerTyper™ Y Macro

为了便于对由PowerPlex® Y 系统产生的数据进行分析，我们创建了可以用ABI Genotyper® 软件进行自动基因分型的文件。样本用PowerPlex® Y 系统扩增之后，用ABI PRISM® 310、3100 或377 DNA 遗传分析仪进行检测，并由GeneScan®分析软件分析，将样本文件导入Genotyper® 程序，并由PowerTyper™ Y Macro 分析。

PowerTyper™ Y Macro 须与Macintosh® Genotyper® 2.5 版本或WindowsNT® Genotyper® 3.6 或更高版本配套使用，在使用PowerTyper™ Y Macro 之前需要在计算机中安装Genotyper® 软件。

注意：1. 要确定在"Sample Info"（Macintosh）或"Color Info"(Windows) 栏的每一个等位基因阶梯行含有"ladder"单词。Macro 通过识别"Ladder"来确认含有等位基因阶梯的样本文件。"Sample Info"可在导入PowerTyperTM Macro之后添加或优化。点亮样品，然后在"view" 下拉菜单中选择"show dye / lanes window"。

注意：如果需要了解更多GeneScan®分析软件的信息，请参考GeneScan®分析软件的用户手册。

注意： 可以向Promega 公司索取索取PowerTyperTMY Macro。

重要：如果未使用"save as"，传输的文件会被覆盖。锁定文件以避免这一情况的发生。

2. 由ABI PRISM® 3100 遗传分析仪产生的数据用GeneScan® 分析软件的Windows NT®版本分析。数据直接导入Genotyper® Windows NT® 版。在数据导入Genotyper® Macintosh®版前，必须运行转换程序(由ABI 获得)，此转换程序可使由Windows NT® 产生的数据可被Macintosh® 软件识别。

B. 分析

1. 在计算机硬盘上安装PowerTyper™ Y Macro。

2. 打开Genotyper® 软件及owerTyper™ Y Macro，有关Genotyper® 软件的问题可参看Genotyper® 用户手册。

3. 在文件栏中选择“Import”，导入GeneScan® Project 或待分析的样本文件。分别输入蓝、黄、绿、红色。在“Edit” 下拉菜单中的“Preferences”栏中选择“Import”输入红色道的数据。
4. 双击“Check ILS”，将会有窗口展示红色的内标情况。要保证内标片段大小标记正确，否则需用GeneScan® 分析软件重新分析样本，重新标记内标片段。

注意：在ABI PRISM® 310 或3100 分析仪上，若黄色峰高（TMR 标记的基因座DYS393,DYS390 及DYS385）超过1000 RFU，则通常会观察到小于150 RFU 的红色杂峰，这并不影响蓝、黄、绿色等位基因的分析。可以在分析参数中升高红色荧光的识别域值(例如: 150-200 RFU)来消除杂峰。

5. **用于案件样本：**双击“POWER”，便开始标识等位基因阶梯样本中各基因座的等位基因，此过程需几分钟，结束时等位基因阶梯的窗口会打开（例如：DYS391,DYS389I, DYS439 及DYS389II 等）。

用于数据库或父权鉴定：双击“POWER 20％Filter"，与标准的“POWER”相可滤过小峰，省去人工编辑过程。但当样本量较少或存在混合物时不宜使用“POWER 20％Filter"。一般而言，等位基因阶梯包含了与多个或全部已知基因座长度相同的片段。等位基因阶梯的大小及重复次数见表2。GeneScan® 及Genotype® 分析 软件将扩增样本片段与等位基因阶梯和内标进行比较，从而达到分型的目的。当用ILS 计算等位基因阶梯长度时，长度值可能与表2 中所列有区别，这是由于等位基因与ILS 序列不同导致了电泳差异所致。该现象不影响分析结果。
6. 双击“Allelic Ladder"，窗口中显示蓝色荧光标记（荧光素）的等位基因阶梯(例如：DYS391, DYS389I, DYS439 及DYS389II),绿色荧光标记（JOE）的等位基因阶梯(例如：DYS438, DYS437, DYS19 及DYS392)，黄色荧光标记(TMR)的等位基因阶梯（例如：DYS393, DYS390, 及DYS385）。确认等位基因阶梯已被正确标识（图3）。

注意：PowerTyperTM Y Macro软件分析使用第一个导入的等位基因阶梯样品进行。如果在等位基因阶梯样本中出现多个“off-ladder allele” 标识则须清除该系统等位基因阶梯样本。

7. 双击“Display Fluorescein Data”展示所有样本的蓝色荧光标记峰，可根据需要进行编辑。
8. 双击“Display TMR Data”展示所有样本的黄色荧光标记峰，可根据需要进行编辑。
9. 双击“Display JOE Data”展示所有样本的绿色荧光标记峰，可根据需要进行编辑。
10. 通过选择“PowerTable”，“Make Allele Table”，或“MakeVertical Table”来创建合适的表格，三种表格显示如下，其中“PowerTable”选项可以允许有4 个等位基因，还包括低峰信号和高峰信号。“Make Allele Table”及“MakeVerticalTable”选项每个基因座只包含2 个等位基因，如



果多于2 个则会包含最小的。Allele Table 表以列的形式来展示各个基因座而Vertical Table 表则以行的形式来展示。

Power Table Format

Sample info	Sample Comment	Peak1	Peak2	Peak3	Peak4	Overflow	Low Signal	Saturation	Edited Label	Edited Row

Allele Table Format

Sample info	Category Allele 1	Category Allele 2	Category Allele 1	Category Allele2	Category Allele 1	Category Allele 2	Category Allele 1	Category Allele 2

Vertical Table Format

Sample info	Category	Peak1	Peak2

注意：这些表格可以根据需要选择。若要将数据保存在表格中，可在“Table”下拉菜单中点亮“ Export to File….”并选择文件名及文件夹保存文件。保存的文件可用Microsoft® Excel 浏览和分析。

11. 用“File” 下拉菜单中的“Save as”保存分析数据。

C. 对照

1. 观察阴性对照结果，阴性对照中不应有扩增产物。
2. 观察9948 男性 DNA 阳性对照结果，峰高的理想值为小于2000RFU，将其与等位基因阶梯对照。预期的9948 男性 DNA 基因分型结果见表2(章节II. B)。

重要：如果未使用“save as”，传输的文件会被覆盖。锁定文件以避免这一情况的发生。

D. 结果

影子带（Stutter 带）

影子带是STR 分析中经常出现的扩增假像。对于相同的基因座，它的图形及强度会因为使用不同的引物而不同，这是反应及扩增条件的差异引起的。对于高信号/模板比值的样品，影子带产物经常出现在正确等位基因峰以下1 个偶尔是2 个重复单位处表1。除了影子带峰以外，有些 PowerPlex®Y 基因座处也可观察到一些类似于影子带的峰。 对于高信号/模板比值的DYS392 基因座及偶尔可见的其它基因座可出现大于正常等位基因1 个重复的峰。DYS19 及DYS389II 会在 n-2 和 n +2 的位置（低于或高于正常等位基因2 个碱基）出现低水平产

物，对于 DYS19, n-2 产物最为常见。 DYS437及DYS385 也可以在 n-5 位置出现低水平峰，DYS385 出现 n -9 产物。影子带及影子带类似峰的强度与信号强度直接相关，当信号强度<2000 RFU 时，就可以得出高质量数据。结果可以根据实验室的情况进行优化。应该进行实验室内部的确认实验。如果需要可以在PowerTyperTM Y Macro 上加入附加的影子带滤片。有关信息请与技术支持联系。

假峰

在 TMR 标记的峰DYS393 及DYS390 之间无等位基因出现的区域会出现低水平假峰，位置大约在150-165 处。这些假像不是因为模板而引起的，而且在阴性对照及低产量产物分析中也会出现。在扩增样品中，在兰色（<70bp），绿色 (<83bp)及黄色 (<80bp)均可观察到低于等位基因应答峰的杂峰出现。在等位基因阶梯中，也可观察到低水平假峰；最显著的是出现在DYS393 和DYS389II 之间的一系列峰。PowerTyperTM Y Macro 不考虑这些假峰，因为这些假峰的强度及位置与等位基因阶梯峰存在差异。一般而言，这些假像并不影响对结果的解释。另外，通过减少进样时间或上样体积可以降低它们的强度，或者在GeneScan®软件中将域值提高到超出可见杂峰的水平。

DYS385a/b 协同

有关DYS385a/b 基因座的非协同性证明在先前已有所阐述。在 Kayser 最初发表的引物序列中，在引物结合位点但在重复区以外引入了一个单碱基缺失（11,13,37）。另外一套引物序列由Schneider 发表，得到的扩增产物要小得多并包含突变区。利用Kayser 引物扩增DYS385a/b 非编码区，比用Schneider 引物得到的扩增产物少一个碱基。现在普遍使用的是Schneider 引物。PowerPlex® Y 系统使用Schneider 引物结合位点以得到更高的男性特异性，产生的扩增产物与Kayser 位点相比要小得多。协同/有效性验证由U.S. National Institute of Standards and Technology (NIST)Standard Reference Material (SRM) 2395 Human Y-Chromosome DNA ProfilingStandard (Gaithersburg, MD) 完成。



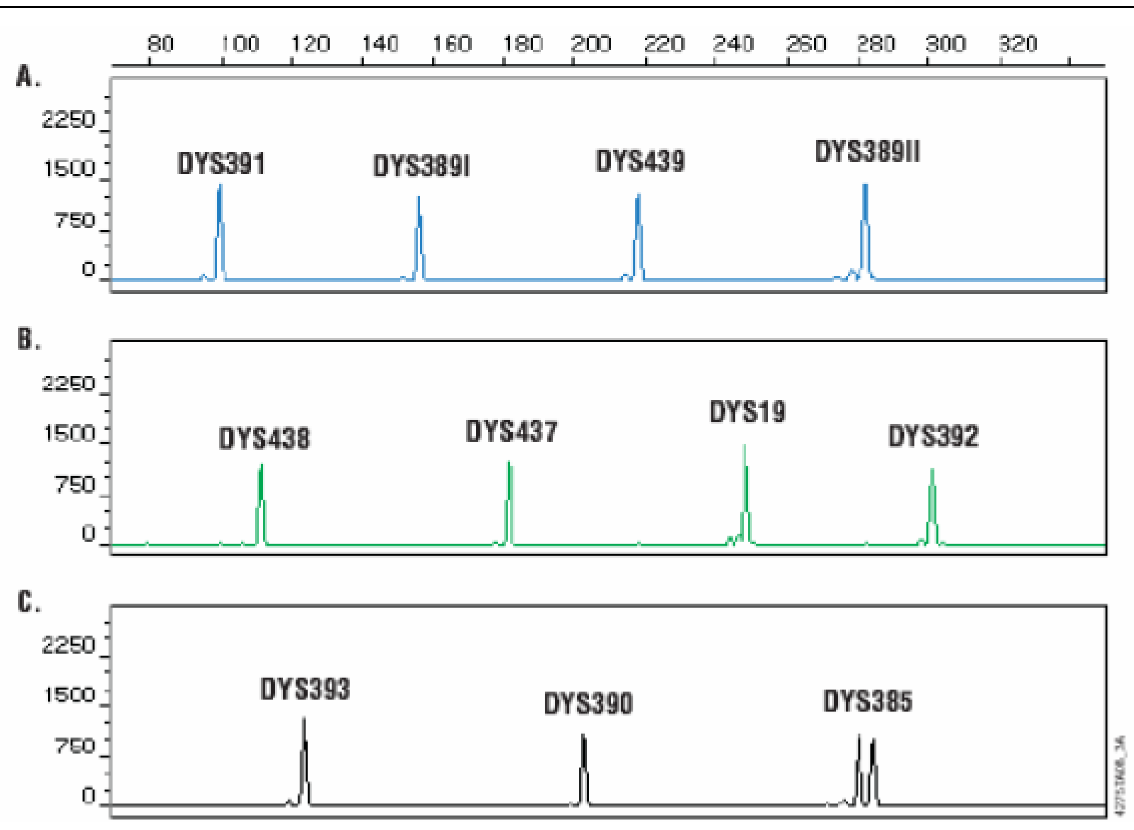


图2. PowerPlex® Y 系统。用PowerPlex® Y 系统中 10X 引物对混合物对1ng的单一模板DNA 进行扩增。扩增产物用ABI PRISM® 310 遗传分析仪检测，进样时间为2 秒。结果用GeneScan® 分析软件进行分析。图A：荧光素标记的DYS391,DYS389I, DYS439 及DYS389II 基因座的电泳峰图。图B：JOE 标记的DYS438,DYS437, DYS19 及DYS392 基因座的电泳峰图。图C：TMR 标记的DYS393,DYS390 及DYS385 基因座的电泳峰图。

图3. PowerPlex® Y Allelic Ladder Mix。PowerPlex® Y Allelic Ladder Mix 在ABIPRISM® 310 遗传分析仪中的电泳图，进样时间为3 秒钟。利用Genotyper® 软件及PowerTyperTM Y Macro 对GeneScan® 样品文件进行分析。图A：荧光素标记的等位基因阶梯的组成及命名。图B：JOE 标记的等位基因阶梯的组成及命名。图C：TMR标记的等位基因阶梯的组成及命名。

X. 问题及解决方法

A. 扩增及片段检测



问题	可能原因	评论
没有等位基因峰或峰很弱	模板 DNA 不纯	由于使用的模板量很少，这一问题很少发生。有些方法提取的 DNA 样品中会存在 PCR 抑制物。
	模板 DNA 量不足	用推荐量的男性 DNA 模板
		在进样时通过减少竞争性带电粒子，会改善毛细管电泳适合分析低拷贝数样品。可以通过 PCR 后纯化或脱盐，使用低电导率的甲酰胺或减少 ILS600 的用量来完成。这些方法必须经过有效性验证。
	酶活性不足	用推荐量的 AmpliTaq Gold® DNA 聚合酶，查看是否过期。
	扩增程序不正确	确证扩增程序正确。
	高盐浓度或 PH 改变	DNA 体积不得超过反应总体积的 20%，样本中过多的钾、钠、镁离子或 EDTA 可对 PCR 产生负面影响。PH 的改变也会对 PCR 产生负面影响。
	热循环仪或扩增管有问题	查看章节 V.B.的热循环步骤。可能需要校正热循环仪的加热块。我们没有验证过其它品牌的扩增管和热循环仪。
	引物浓度太低	用推荐量的引物浓度，使用前充分混匀。
	样品上样前未变性	确保样品在凝胶电泳或毛细管电泳前加热变性后立即插入碎冰中冷却。
	去离子甲酰胺质量差	在使用由 ABI PRISM® 310 及 3100 遗传分析仪进行电泳检测时，要确保使用高质量的甲酰胺。去离子甲酰胺的电导率应小于 100μS / cm。
	毛细管电泳进样差（ILS600 峰也受影响）	重新进样，检查注射器是否渗漏并检查激光能量。
在一个或所有的颜色有额外的杂峰出现	模板 DNA 被其它 DNA 模板或先前的扩增产物污染	用防回气加样头并定期更换手套。
	样品未完全变性	样品在凝胶电泳或毛细管电泳前加热变性后立即插入碎冰中冷却。
	STR 扩增的假峰	STR 系统的 PCR 扩增有时会产生低于等位基因的较弱假峰。如果上样量过大（如：>2,000RFU），鬼带峰的高度就会增高。参见章节 IX.D 。



问题	可能原因	评论
在一个或所有的颜色有额外的杂峰出现	高背景	减少上样量或降低上样时间。参见章节 IX.D。也可以参考 *Matrix-FL-JOE-TMR-CXR* 技术手册 TBD015 以了解 ABI PRISM® 310 遗传分析仪及 ABI PRISM® 377 DNA 测序仪使用的 Matrix 优化方法的信息。
	与毛细管电泳(CE)相关的假峰（“钉子”）	微小电压变化或尿素结晶穿过扫描窗引起“钉子”或非预期的峰。钉子有时出现于一种颜色中但经常会出现在一种以上的颜色中，所以容易分辨。重新进样以确认。
	与毛细管电泳(CE)相关的假峰（污染）	用于 ABI PRISM® 310 或 3100 遗传分析仪及用于稀释 10X Genetic Analyzer Buffer 的水如果被污染，就会在兰色及绿色的染料颜色中出现假峰。使用无菌水，更换阀门，盖子并清洗缓冲液容器。
	过量男性 DNA	我们推荐使用 0.5-1.0ng 男性 DNA 模板。如果扩增的男性 DNA 模板>2.0ng，可能会出现较多的鬼带。使用较少的模板或在扩增时减少 2-4 个循环(10/20 或 10/18)。
	Pull-up 或 bleedthrough	当峰高>2000RFU 或对样品使用了不正确或质量不高的 matrix 时出现。提高分析参数中的峰域值(例如 150-200RFU)然后用 GeneScan® 软件重新分析或生成新的 matrix 用于样品。

等位基因阶梯与样本不符	等位基因阶梯与引物不匹配	确保使用同一个试剂盒的等位基因阶梯与引物
	去离子甲酰胺质量差	在使用由 ABI PRISM® 310 及 3100 遗传分析仪进行电泳检测时，要确保使用高质量的甲酰胺。去离子甲酰胺的电导率应小于 100µS / cm。
	缓冲液不匹配	稀释样品时使用了错误的缓冲液。选用 1X Gold ST★R Buffer 稀释样品。
	由于温度变化或在 CE 柱中时间过长，许多样品的迁移率会出现轻微变化	在不同的时间进等位基因阶梯的样本。使用不同的迁移率重新定义样品的内标就可进行比较



峰高不平衡	男性 DNA 过量	我们推荐使用 0.5-1.0ng 男性 DNA 模板。如果扩增的男性 DNA 模板>2.0ng，就会出现较小基因座的产量大于较大基因座的产量的现象。使用较少的模板或在扩增时减少 2-4 个循（10/20 或 10/18）以提高基因座与基因座之间的平衡。
	使用 FTA™ 纸	结果与使用过量男性 DNA 模板得到的结果类似。使用较少的模板或在扩增时减少 2-4 个循（10/20 或 10/18）以提高基因座与基因座之间的平衡。
	DNA 样本降解	DNA 模板降解成小片段使大片段基因座扩增产量降低。
	男性 DNA 模板量不足	使用推荐量的男性 DNA 模板。
	去离子甲酰胺质量差	在使用由 ABI PRISM® 310 及 3100 遗传分析仪进行电泳检测时，要确保使用高质量的甲酰胺。去离子甲酰胺的电导率应小于 100μS / cm。
	存在女性 DNA	当女性 DNA 浓度大于男性 DNA 100 倍时某些基因座的相对产量会降低。

B. PowerTyperTM Y Macro



不能打开文件	未安装 Genotyper®软件	确认已安装了 2.5（Macintosh）或 3.5（Windows）或更高版本的 Genotyper®软件。
	Genotyper®软件版本不正确	PowerTyper™ Y Macro 不能与 2.5 版以前的 Genotyper®软件一起使用。
出现错误信息"由于未选择颜色/泳道而无法完成'Run Macro'指令"	未找到等位基因阶梯样本文件	确认在包含有 PowerPlex® Y Allelic Ladder Mix 的"color info"或"sample info"栏中已正确标记"ladder"。Macro 使用"ladder"来找到含有等位基因阶梯的文件。
	未输入所有的四种颜色	对于 2.5 版本的 Genotyper®，在 Preferences(在"edit"菜单下)设置中输入兰色，绿色，黄色和红色。
出现错误信息："由于未找到标记峰，不能完成'Run Macro'指令"	等位基因阶梯峰太高使得鬼带峰也被误认为等位基因阶梯峰	等位基因阶梯类别的定义是：最小峰高为 150RFU。如果等位基因阶梯的峰高小于 150RFU，软件将不能指定等位基因阶梯峰。使用更多阶梯或较长进样时间重新运行等位基因阶梯以确保峰高超过 150RFU。

	等位基因阶梯峰太高使得鬼带峰也被误认为等位基因阶梯峰。	使用较短的进样时间，减少等位基因阶梯的用量或在 GeneScan® 软件中调高峰高的域值重新分析等位基因阶梯样品。
	等位基因阶梯样品的 CE 尖刺峰也被 Macro 误认为等位基因。	使用不同的等位基因阶梯的进样时间。

Allele Table 中所列数据不全	Macro 的运行次序不正确	"POWER"或"POWER 20% Filter" Macro 要最先运行。
	未输入四种荧光色	对 Genotyper®2.5， 3.5 或更高版本，在导入兰色、绿色、黄色和红色四种颜色时要设置参数（在"Edit"下）。
"Check ILS macro" 无图形显示	未输入四种荧光色	对 Genotyper®2.5， 3.5 或更高版本，在导入兰色、绿色、黄色和红色四种颜色时要设置参数（在"Edit"下）。
错误信息："由于未找到标记峰，不能完成'Run Macro'指令"	等位基因阶梯的碱基对大小不在定义范围内	确认内标片段的大小定义正确。重新定义内标片段并使用 GeneScan® 软件重新分析样品。
		将等位基因阶梯中最小的等位基因的大小与列表中相应的等位基因进行比较。如果需要，将列表中的起始范围增±5bp 并存为新文件。
	等位基因阶梯数据与 Genotyper®文件不匹配	确认 PowerTyper™ Macro 文件与所使用的等位基因阶梯相吻合。
使用 ABI PRISM® 310 及 3100 遗传分析仪时出现许多阶梯外峰。	在进行多个样品的毛细血管电泳时，样品的迁移速率会发生微小的变化，这可能是由于温度或样品在毛细管中停留时间的变化所引起的。	做不同的等位基因阶梯电泳以确定 Genotyper® Macro 中的等位基因阶梯的大小。不要将新毛细管的第一次进样用于阶梯样品。
	由于内标片段的大小定义不正确使得等位基因阶梯碱基对大小不正确	确认内标片段的大小定义正确。重新定义内标片段并使用 GeneScan® 软件重新分析样品。

XI. 参考文献

1. Edwards, A. *et al.* (1991) DNA typing with trimeric and tetrameric tandemrepeats: polymorphic loci, detection systems, and population genetics. In: *TheSecond International Symposium on Human Identification* 1991, PromegaCorporation, 31-52.

2. Edwards, A. *et al.* (1991) DNA typing and genetic mapping with trimeric and tetrameric tandem repeats. *Am. J. Hum. Genet*. 49, 746-56.

3. Edwards, A. *et al.* (1992) Genetic variation at five trimeric and tetrameric tandem repeat loci in four human population groups. *Genomics* 12, 241-53.

4. Warne, D. *et al*. (1991) Tetranucleotide repeat polymorphism at the human ß-actin related pseudogene 2 (actbp2) detected using the polymerase chain reaction. *NucL Acids Res*. 19, 6980.

5. Ausubel, RM. *et al.* (1993) Unit 15: The polymerase chain reaction. In: *CurrentProtocols in Molecular Biology*, Vol. 2, Greene Publishing Associates Inc., andJohn Wiley and Sons, NY.

6. Sambrook, J., Fritsch, E.F. and Maniatis, T. (1989) Chapter 14: In vitroamplification of DNA by the polymerase chain reaction. In: *Molecular Cloning:A Laboratory Manual, Second Edition*, Cold Spring Harbor Laboratory Press,Cold Spring Harbor, New York.

7. *PCR Technology*: *Principles and Applications for DNA Amplification* (1989) Erlich, H.A., ed., Stockton Press, New York, NY.

8. *PCR Protocols*: *A Guide to Methods and Applications* (1990) Innis, M.A. *et al.,* eds., Academic Press, San Diego, CA.

9. Gusmao L., Carracedo, A. (2003) Y Chromosome-specific STRs. *Profiles in DNA* 6, 3-6.

10. Jobling, M.A., Pandya, A., Tyler-Smith, C. (1997) The Y Chromosome in forensic analysis and paternity testing. *Int. J. Legal Med.* 110, 118-24.

11. Gill, P. *et al.* (2001) DNACommission of the International Society of Forensic Genetics: Recommendations on forensic analysis using Y-chromosome STRs. *Int. J. Legal Med.*114, 305-9.

12. Roewer L. *et al.* (2001) Online reference database of European Y-chromosome short tandem repeat (STR) haplotypes. *Forensic Sci. Int.* 118, 106-13.

13. Butler, J. M. *et al.* (2002) A novel multiplex for simultaneous ampilification of 20Y chromosome STR markers. *Forensic Sci. Int.* 129, 10-24.



14. Kaser, M. *et al.* (1997). Evaluation of Y-chromosomal STRs: A multicenter study. *Int. J. Legal Me.* 110, 125-33.
15. Ruitberg, C. M., Reeder, D. J., Butler, J. M. (2001) STRBase: A short tandem repeat DNA database for the human identity testing community. *Nucl. Acids Res.* 29, 320-2.
16. Prinz, M., Boll, K., Baum, H., Shaler, B. (1997) Multiplexing of Y chromosome specific STRs and performance for mixed samples. *Forensic Sci. Int.* 85, 209-18.
17. Prinz, M. *et al.* (2001) Validation and casework application of Y chromosome specific STR multiplex. *Forensic Sci. Int.* 120. 177-88.
18. Krenke, B. *et al*. (2003) The PowerPlex® Y system. *Profiles in DNA* 6(2), 7-10.
19. Budowle, B. *et al.* (1991) Analysis of the VNTR locus D1S80 by the PCR followed by high-resolution PAGE. *Am. J. Hum. Genet*. 48, 137-44.
20. Nakamura, Y. *et al.* (1987) Variable number of tandem repeat (VNTR) markers for human gene mapping. *Science* 235, 1616-22.
21. Budowle, B. and Monson, K.L. (1989) In: *Proceedings of an International Symposium on the Forensic Aspects of DNA Analysis*, Government Printing Office, Washington, DC.
22. Levinson, G. and Gutman, G.A. (1987) Slipped-strand mispairing: A major mechanism for DNA sequence evolution. *MoL BioL EvoL* 4, 203-21.
23. Schlotterer, C. and Tautz, D. (1992) Slippage synthesis of simple sequence DNA. *Nucl. Acids Res*. 20， 211-5
24. Smith, J.R. et al. (1995) Approach to genotyping errors caused by nontemplated nucleotide addition by Taq DNA polymerase. *Genome Res.* 5, 312-7.
25. Magnuson, V.L. et al. (1996) Substrate nucleotide-determined non-templated addition of adenine by Taq DNA polymerase: Implications for PCR-based genotyping. *BioTechniques* 21, 700-9.
26. Walsh, RS., Fildes, N.J. and Reynolds, R. (1996) Sequence analysis and characterization of stutter products at the tetranucleotide repeat locus vWA. *Nucl. Acids Res*. 24, 2807-12
27. Moller, A., Meyer, E. and Brinkmann, B. (1994) Different types of structural variation in STRs: HumFES/FPS, HumVWA and HumD21S11. *Int. J. Leg. Med*. 106, 319-23.



28. Brinkmann, B., Moiler A. and Wiegand, P. (1995) Structure of new mutations in 2 STR systems. *Int. J. Leg. Med.* 107, 201-3.

29. Ayub, Q. *et al.* (2000). Identification and characterization of novel human Y-chromosomal microsatellites from sequence database information. *Nucl. Acids Res.* 28, e8.

30. Bär, W. *et al.* (1997) DNA recommendations: Further report of the DNA Commission of the ISFH regarding the use of short tandem repeat systems. *Int. J. Legal Med.* 110, 175-6.

欲了解更多STR 参考文献，请登录网站：www.promega.com/geneticidentity/



XII. 附录

A. 缓冲液和溶液的组成

10%过硫酸铵

将0.05g过硫酸铵加入到500μl去离子水中。

Blue Dextran Loading Solution

88．25%	Formamide
15mg / ml	blue Dextran
4.1mM	EDTA (pH8.0)

去离子甲酰胺

使用 Amresco 超级纯甲酰胺(Cat. #0606)。用电导计测试其电导率，去离子甲酰胺的电导率应小于100μS / cm。去离子甲酰胺可以分装及冷冻，但应避免反复冻融。

Gold ST★R 10x Buffer

500mM	KCl
100mM	Tris-HCl(PH8.3 25°)
15mM	$MgCl_2$
2mM	each dNTP
1%	Triton® X-100
1.6mg/ml	BSA

TAE 50 x buffer(PH7.2)

242g	Tris base
57.1ml	glacial acetic acid
100ml	0.5M EDTA

将Tris base和EDTA溶于500ml去离子水中，加入冰醋酸，再加入去离子水至溶液总体积为1升。

TBE 10 x buffer

107.8g	Tris base
7.44 g	EDTA ($Na_2EDTA \cdot 2H_20$)
~55.0 g	boric acid

将Tris base和EDTA溶于800ml去离子水中，缓慢加入硼酸，小心调节pH值至8.3。加入去离子水至溶液总体积为 1.0升。

TE^{-4} [10mM Tris-HCl, 0.1mM EDTA (PH8.0)]

2.21g	Tris base
0.037g	EDTA ($Na_2EDTA \cdot 2H_20$)

将Tris base和EDTA溶于900ml去离子水中，用盐酸调节pH值至8.0。加入去离子水至溶液总体积为1.0升。

B. 相关产品

Flurescent STR Systems



产品	包装	目录号
PowerPlex® 16 System	100次	DC6531
	400 次	DC6530
PowerPlex® 16 BIO System	100次	DC6541
	400 次	DC6540
PowerPlex® ES System	100次	DC6731
	400 次	DC6730
Amelogenin (Fluorescein)	100次	DC5171
	400 次	DC5170
Amelogenin (TMR)	100次	DC6171
	400 次	DC6170

非医学诊断使用。

Accessory Components

产品	包装	目录号
PowerTyper™ Macro**	1张CD-ROM	DG3470
9948 Male DNA	250ng	DD2601
9947A DNA**	250ng	DD1001
Internal Lane Standard 600**	150μl	DG2611
Fluorescent Ladder CXR, 60-400 Bases	65μl	DG6221
PowerPlex® Mattix Standards,310/377*	50μl/每种染料	DG3640
PowerPlex® Matrix Standards, 3100*	50μl/每种染料	DG3650
Gold ST★R 10x Buffer**	1.2ml	DM2411
Mineral Oil**	12ml	DY1151
Nuclease-Free Water**	50ml	P1193

*仅限实验室使用。

**非医学诊断使用。

Sample Preparation Systems

产品	包装	目录号
DNA IQ™ System*	100 次	DC6701
	400 次	DC6700
AluQuant® Human DNA Quantitation System**	80 次	DC1010
	400 次	DC1011

*仅限实验室使用。

**非医学诊断使用。



Polyacrylamide Gel Electrophoresis Reagents

产品	包装	目录号
Ammonium Persulfate	25g	V3131
TBE Buffer, 10 X	1L	V4251
TEMED	50ml	V3161
Urea	1kg	V3171

ART® Aerosol-Resistant Tips

产品	容积	包装	目录号
ART® 10 Ultramicro Pipet Tip	0.5-10µl	960	DY1051
ART® 20E Ultramicro Pipet Tip	0.5-20µl	1,000	DY1061
ART® 20P Pipet Tip	20µl	960	DY1071
ART® GEL Gel Loding Pipet Tip	100µl	1,000	DY1081
ART® 100 Pipet Tip	100µl	960	DY1101
ART® 100E Pipe Tip	100µl	960	DY1111
ART® 200 Pipet Tip	200µl	960	DY1121
ART® 1000E Pipet Tip	1,000µl	768	DY1131